



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 42 00 066 A 1**

⑥1 Int. Cl.⁵:
A 01 N 37/36

⑳1 Aktenzeichen: P 42 00 066.1
㉔2 Anmeldetag: 6. 1. 92
㉔3 Offenlegungstag: 8. 10. 92

DE 42 00 066 A 1

③0 Innere Priorität: ③2 ③3 ③1
27.03.91 DE 41 10 078.6

㉔1 Anmelder:
Fresenius AG, 6380 Bad Homburg, DE

㉔4 Vertreter:
Fuchs, J., Dr.-Ing. Dipl.-Ing. B.Com.; Luderschmidt,
W., Dipl.-Chem. Dr.phil.nat.; Seids, H., Dipl.-Phys.;
Mehler, K., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat.; Weiß, C.,
Dipl.-Ing.Univ., Pat.-Anwälte, 6200 Wiesbaden

㉔2 Erfinder:
Kirschner, Ulrich, Dipl.-Chem. Dr., 6082
Mörfelden-Walldorf, DE; Pohl, Thomas, Dipl.-Ing.,
6380 Bad Homburg, DE

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Verwendung eines wäßrigen zitronensäurehaltigen Desinfektionsmittels zur Inaktivierung von
Hepatitis-B-Viren, bakteriellen Sporen und Legionella pneumophila

⑤7 Bei der Desinfektion im klinischen Bereich wird ein
zitronensäurehaltiger, gegebenenfalls Äpfelsäure und/oder
Milchsäure enthaltendes Desinfektionsmittel, das sich neben
seiner Umweltverträglichkeit und geringen Toxizität im Men-
schen durch eine hohe Wirksamkeit bei verhältnismäßig
niederen Einwirkungstemperaturen und geringen Einwir-
kungszeiten auszeichnet, zur Inaktivierung von Hepatitis-
B-Viren, bakteriellen Sporen und/oder Legionella pneumo-
phila verwendet.

DE 42 00 066 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft die Verwendung eines wäßrigen zitronensäurehaltigen Desinfektionsmittels bei der Desinfektion insbesondere thermolabiler medizinischer Instrumente und Geräte sowie Teile derselben.

- 5 Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, der Desinfektion mit zitronensäurehaltigen wäßrigen Desinfektionsmitteln neue klinische Anwendungsbereiche zu erschließen, wobei auf dem neuen Verwendungsgebiet eine hohe Wirksamkeit bei möglichst geringer Einwirkungszeit und möglichst niedrigen Einwirkungstemperaturen gewährleistet sein soll. Insbesondere in klinischen Bereichen, in denen die Verwendung von zitronensäurehaltigen wäßrigen Desinfektionsmitteln bislang nicht angezeigt war, weil das Risiko einer Infektion zu groß war, soll
10 die Wirksamkeit gut sein.

Bekanntlich stellt gerade im Dialysebereich die Gefahr einer Hepatitis-Infektion ein ernstes Problem dar.

- Es ist bekannt, daß zur rein thermischen Inaktivierung von Hepatitis-B-Viren eine Temperatur von 100°C bei einer Erhitzungsdauer von 10 Minuten oder aber eine Erhitzungsdauer von 10 Stunden auf eine Temperatur von 60°C, und von Hepatitis-A-Viren ein einminütiges Erhitzen auf 98°C erforderlich ist (vgl. K. H. Wallhäußer, "Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Konservierung", 4. Aufl. 1988, Georg Thieme Verlag Stuttgart/New York, Seiten 75 ff. (Tabelle 31)). Desweiteren ist bekannt, daß Bakterien schon bei Temperaturen ab 60°C inaktiviert werden. Infolge der erforderlichen verhältnismäßig hohen Temperaturen bzw. langen Einwirkungszeit ist diese Desinfektionsmethode insbesondere für hitzelabile Geräte aus Kunststoffen, wie zum Beispiel Dialysegeräten, unbrauchbar, weshalb derzeit eine Desinfektion von Geräten und Instrumenten durch Einlegen derselben für mindestens 6 Stunden in eine 3%ige Formalinlösung erfolgt, wonach zwecks Vermeidung einer völlig unerwünschten Wirkstoffadsorption an den Kunststoffoberflächen sorgfältig gespült werden muß (vgl. K. H. Wallhäußer, a.a.O., S. 76). Abgesehen von der Umweltfeindlichkeit und Toxizität des Wirkstoffs Formaldehyd, sind derartige Verweilzeiten in der Praxis wenig akzeptabel.

- Es wurde nun gefunden, daß die Aktivität des Hepatitis-B-Virus durch eine nur 1,5 (0,4) Gew.-%ige wäßrige Zitronensäurelösung bereits bei einer Einwirkungstemperatur von 20°C (60°C) und einer Einwirkungszeit von nur 5 Minuten auf eine virale Aktivität herabgesetzt werden kann, die im DNS-Polymerasetest nicht mehr meßbar war. Dies ist überraschend, nachdem nachgewiesen worden war, daß das bovine Parvovirus (BPV, Stamm Haden), das gegenüber chemischen Desinfektionsmitteln als sehr widerstandsfähig gilt, bei einer Temperatur von 30°C und weniger, selbst bei einer Einwirkungszeit von 6 Stunden durch Essig-, Propion-, Zitronen- oder sogar Ameisensäure, die sich bei höheren Temperaturen am wirksamsten erwies, in einer Konzentration von 3% nicht bzw. nicht nennenswert inaktiviert wird (vgl. Hyg + Med 15 (1990), S. 313 – 317), und andererseits eine Inaktivierung des Hepatitis-A- und Hepatitis-B- Virus durch Einstellung eines sauren pH-Bereichs auszu-
30 schließen war (vgl. K. H. Wallhäußer, a.a.O., Seiten 79/80).

- Gegenstand der Erfindung ist nun die Verwendung eines gegebenenfalls in Konzentratform vorliegenden Desinfektionsmittels mit einem Gehalt an Zitronensäure als Wirkstoff bei der Desinfektion von Dialysegeräten, insbesondere thermolabilen medizinischen Instrumenten und Geräten sowie Teilen derselben, aber auch Flächen zur Inaktivierung von Hepatoviren, insbesondere des Hepatitis-B-Virus.

- Das neu verwendete Desinfektionsmittel zeichnet sich gegenüber dem bislang verwendeten, Formaldehyd enthaltenden Desinfektionsmittel durch die Umweltfreundlichkeit seiner viruziden Wirkstoffe aus; vor allem aber ermöglicht es wesentlich geringere Einwirkungszeiten, und dies bei ebenfalls relativ niedrigen Temperaturen. Es können u. a. mit Bakterien und/oder Hepatoviren, insbesondere Hepatitis-B-Viren, kontaminierte Flächen, insbesondere von thermolabilen medizinischen Instrumenten und Geräten sowie Teilen derselben, desinfiziert werden, wobei man die Flächen bei einer Temperatur von etwa 20°C bis etwa 75°C während zumindest 1 bis 5 Minuten mit einer wäßrigen Lösung in Berührung bringt, die Zitronensäure in einer viruziden Konzentration
45 enthält.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung des wäßrigen zitronensäurehaltigen Desinfektionsmittels zur Inaktivierung von bakteriellen Sporen.

In noch einer weiteren erfindungsgemäßen Verwendung dient das Desinfektionsmittel auch zur Inaktivierung von Legionella pneumophila.

- 50 Eine besondere Ausführungsform des erfindungsgemäß verwendeten Desinfektionsmittels enthält Zitronensäure als viruziden Wirkstoff, vorzugsweise in einer Konzentration von 0,05 – 3 Gew.-%, vorzugsweise 0,2 – 2,5 Gew.-%, insbesondere etwa 0,4 – 0,6 Gew.-%.

- Da die desinfizierende Wirkung mit der Erhöhung der Temperatur und Einwirkzeit zunimmt, ist die obere Grenze der Zitronensäurekonzentration speziell kurzen Einwirkzeiten, beispielsweise 5 – 10 Min., und niedrigen Temperaturen, beispielsweise die Raumtemperatur, zuzuordnen, während die unteren Grenzwerte entsprechend höheren Temperaturen eher 60% und mehr sowie längeren Einwirkzeiten (15 Min. und mehr) zuzuordnen sind.

- Die Wirkung der Zitronensäure kann durch Zugabe weiterer Säuren, insbesondere Apfelsäure, Milchsäure und/oder Weinsäure verbessert werden. Zusätzlich können hierdurch Resistenzentwicklungen verhindert werden. Darüber hinaus kann die Neigung zur Kristallisation unterdrückt werden. Diese Säuren werden jeweils in einer Menge von 5 – 20 Gew.-%, vorzugsweise etwa 10 Gew.-%, des Zitronensäuregehalts eingesetzt.

- Das erfindungsgemäß verwendete Desinfektionsmittel wird zweckmäßigerweise in Form eines Säurekonzentrats zur Verfügung gestellt, wobei sich eine besondere Ausführungsform durch einen Gehalt von 50 Gew.-% Zitronensäure auszeichnet. Das Konzentrat wird am Ort des Einsatzes mit sterilem, entionisiertem Wasser auf die niedrigere Konzentration, z. B. auf 2 Gew.-%, verdünnt.

Eine weitere besondere Ausführungsform in Form eines Konzentrats zeichnet sich durch einen Gehalt von 21 Gew.-% Zitronensäure, 2 Gew.-% Milchsäure und 2 Gew.-% Apfelsäure aus.

Wie nachgewiesen wurde (vgl. nachfolgendes Beispiel) ermöglicht schon eine 1,5 Gew.-%ige wäßrige Zitro-

nensäurelösung die völlige Inaktivierung von Hepatitis-B-Viren bei einer Einwirkungszeit von nur 5 Minuten und einer Einwirkungstemperatur von lediglich 20°C. Demgemäß kann man bei der Desinfektion unter erfindungsgemäßer Verwendung des Desinfektionsmittels die kontaminierten Flächen mit einer zumindest 1,5 Gew.-%igen, vorzugsweise 1,5 Gew.-%igen, wäßrigen Zitronensäurelösung bei einer Einwirkungstemperatur von 20 – 75°C, insbesondere 20°C, und während einer Einwirkungszeit von zumindest 5 Minuten, insbesondere 5 Minuten, in Berührung bringen.

Nachfolgende Beispiele dienen zur näheren Erläuterung der Erfindung.

Soweit nicht anders angegeben, beziehen sich Prozentangaben auf das Gewicht.

Beispiel 1

A Testmethode

Die hepatoviruziden Eigenschaften einer 2 Gew.-%igen Zitronensäurelösung wurden im Suspensionsversuch bei 20°C und bei 75°C untersucht.

Da in vitro-Vermehrungssysteme für das Hepatitis-B-Virus (HBV) bislang noch nicht zur Verfügung stehen, wurde die Bestimmung der HBV-Infektiosität bei vorliegenden Versuchen mit dem DNS-Polymerase-Test vorgenommen. Die DNS-Polymerase stellt einen guten Marker für die strukturelle Integrität des Virus dar und kann deshalb als indirekter Marker für die Infektiositäten herangezogen werden.

C Zubereitung der Dane-Partikel-Suspension

Zur Konzentrierung und partiellen Reinigung der eingesetzten Dane-Partikel wurden 240 ml Serum von einem Probanden mit chronischem HBsAg-Trägerstatus und Nachweis von HBeAg und der DNS-Polymerase in einer Zentrifuge vom Typ SW 28 Rotor bei 25 000 UpM während 16 Stunden bei 4°C zentrifugiert. Das Sediment wurde in 2 ml 0,01 M PBS mit 0,1% (Gew./Vol.) Serumalbumin aufgenommen, und jeweils ein Milliliter wurde mit 4 ml einer 20%igen (Gew./Gew.) Saccharose-Lösung unterschichtet. Eine Zentrifugation in einer Zentrifuge vom Typ SW 60 Ti Rotor bei 50 000 UpM während 2 h schloß sich an. Nach dem Dekantieren wurden die Dane-Partikel in 0,01 M Tris-Puffer (pH 7,4) aufgenommen. Als Maß für die Konzentration der Dane-Partikel erfolgte die Bestimmung der DNS-Polymerase-Aktivität nach der von KAPLAN u. a. beschriebenen Methode (vgl. J. Virol. 12 (1973), S. 995 ff.). Hierbei wird nach Zugabe aller vier Desoxyribonukleosid-triphosphate die neu synthetisierte DNS gemessen, indem die Radioaktivität im Flüssigkeitszintillationszähler bestimmt wird.

D Desinfektionsmittelversuche

In den nachfolgenden Versuchen diente als Desinfektionsmittel eine 2 Gew.-%ige wäßrige Zitronensäurelösung, die durch Auflösen einer im Handel erhältlichen Zitronensäure (Handelsprodukt der Fa. Merck, Art 244) in zweifach destilliertem Wasser hergestellt wurde. Der pH-Wert der 2 Gew.-%igen Lösung war 2,2.

Die Desinfektionsmittelversuche wurden in Polyallomer-Röhrchen angesetzt und in einem Wasserbad bei 20°C und bei 75°C entsprechend der Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. durchgeführt. Der Versuchsansatz bestand aus einem Volumenteil Dane-Partikel-Suspension, einem Volumenteil 0,01 M Tris-Puffer und 8 Volumenteilen der 2 Gew.-%igen Zitronensäurelösung als Desinfektionsmittel.

Bei den Versuchen mit Eiweißbelastung wurde der Tris-Puffer durch eine 2%ige Rinderserumalbumin-Lösung (bovine serum albumin, BSA) der Fa. Beringwerke) bzw. durch foetales Kälberserum (FKS der Fa. Boehringer Mannheim) ersetzt.

Ferner folgte ein Versuchsansatz ohne Viruszugabe, um auf diese Weise ggfls. eine Unspezifität im DNS-Polymerase-Test durch vorhandene Desinfektionsmittel zu erkennen.

Als positive Kontrolle wurde eine 1,75 Gew.-%ige Formaldehydlösung (pH 7,0) mitgeführt. Diese Lösung hatte in früheren Versuchen eine HBV-Wirksamkeit im DNS-Polymerase-Test gezeigt.

Unmittelbar nach Ablauf der Einwirkungszeit wurde mit 2,4 ml 0,01 M Tris-Puffer verdünnt, um durch Verdünnung die Wirkung des Desinfektionsmittels aufzuheben, wonach mit 2 ml einer 20 Gew.-%igen Saccharoselösung unterschichtet wurde. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation in einer Zentrifuge vom Typ SW 60 Ti Rotor mit 50 000 UpM bei 4°C während 2 Stunden. Die Sedimente wurden nach Dekantieren des Überstandes und nach Trocknen im Exsikkator in 50 µl 0,01 M Tris-Puffer resuspendiert, und 25 µl wurden für die Bestimmung der DNS-Polymerase-Aktivität in diesem Test eingesetzt.

Gemäß einem weiteren Versuch wurde eine 0,4 Gew.-%ige Zitronensäurelösung bei 60°C und ein Gemisch aus 0,6 Gew.-% Zitronensäure, 0,06 Gew.-% Milchsäure und 0,06 Gew.-% Apfelsäure ebenfalls bei 60°C zu Desinfektionsmittelzwecken eingesetzt.

E Ergebnisse

Die Ergebnisse der unter Verwendung von partiell gereinigten Dane-Partikeln durchgeführten Inaktivierungsversuche mit der 2 Gew.-%igen wäßrigen Zitronensäurelösung als Desinfektionsmittel sind in den Tabellen 1 und 2, sowie die mit einer 1,75 Gew.-%igen wäßrigen Formaldehydlösung als Kontrolle durchgeführten Versuche in Tabelle 3 enthalten. Die eingesetzte Dane-Partikel-Suspension war so eingestellt, daß 100 µl dieser Lösung ca. 20 000 Counts pro Minute (cpm) ergaben. Damit war sichergestellt, daß sich die HBV-Konzentration im Versuchsansatz auf $\approx 10^8$ Dane-Partikel belief.

Tabelle 1 zeigt die Versuchsergebnisse, die bei erfindungsgemäßem Einsatz der 2 Gew.-%igen Zitronensäurelösung als Desinfektionsmittel erhalten wurden. Die Messungen erfolgten nach einer Einwirkungszeit von 5, 15 und 30 Minuten, um auch eine Aussage zur Kinetik machen zu können. Als Ausgangsdaten für die Abnahme der HBV-Aktivität dienten die Werte, die in Gegenwart von Tris-Puffer erhalten worden waren. Durch den Ansatz ohne Viruszugabe wurde ein möglicher Einfluß der Zitronensäure auf das Testsystem untersucht und damit auch auf diese Weise die untere Nachweisbarkeitsschwelle definiert. Für die 2 Gew.-%ige Zitronensäurelösung wurden die Werte 10, 10 und 12 cpm in den drei gewählten Ansätzen gefunden.

Aus Tabelle 1 ergibt sich, daß bereits nach fünfminütiger Einwirkungszeit Counts zu finden waren, die im Bereich der Ansätze lagen, die mit Tris-Puffer und ohne Viruszugabe durchgeführt worden waren. Damit ist die untere Nachweisbarkeitsschwelle erreicht worden, und keine virale Aktivität im DNS-Polymerase-Test mehr meßbar. Diese Aussage gilt auch für die Proben, die Eiweiß im Ansatz enthielten.

Um den Einfluß des Desinfektionsmittels und die Bedeutung der thermischen Behandlung getrennt zu studieren, wurden überdies weitere Versuche durchgeführt. Dabei wurde die Wirksamkeit der 2 Gew.-%igen Zitronensäurelösung bei 20°C, sowie der Einfluß der Temperatur ohne Desinfektionsmittelzugabe untersucht. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Tabelle 2 enthalten.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die 1,5 Gew.-%ige Zitronensäurelösung schon bei 20°C in der Lage ist, den initialen Virustiter entscheidend zu senken. Auch hier wurden nach 5 Minuten Countzahlen gefunden, die im Bereich der Kontrollen lagen und damit den Background darstellen. Demgegenüber wurde ermittelt, daß der alleinige Einfluß der Temperatur bei 75°C nicht ausreichend ist, die virale Aktivität im DNS-Polymerase-Test vollständig zu eliminieren. Auch nach 5 und 15 Minuten Einwirkungszeit wurden Werte gefunden, die noch deutlich über den entsprechenden Daten im Zitronensäure-Ansatz lagen. Bemerkenswert erscheint, daß die höchsten Countzahlen jeweils im Ansatz mit foetalem Kälberserum zu finden waren.

Bei den Inaktivierungsversuchen wurden zur Kontrolle eine 1,75 Gew.-%ige Formaldehydlösung mitgeführt, nachdem sich bei früheren Versuchen ergeben hatte, daß die 0,7 Gew.-%ige Lösung, die nach der Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (DVV) von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren vorgesehen ist, nicht in der Lage war, den HBV-Titer innerhalb von 60 Minuten Einwirkungszeit deutlich zu reduzieren.

Die Untersuchungsergebnisse der Formaldehyd-Vergleichsversuche sind in Tabelle 3 enthalten. Hieraus ist ersichtlich, daß die Einwirkungszeit 60 Minuten betragen muß, um die HBV-Aktivität, wie sie im DNS-Polymerase-Test gemessen wird, vollständig zu eliminieren. Nach dieser Zeit wurde eine Countzahl von 24 gefunden; diese ist ein Wert, der auch im Ansatz ohne Viruszugabe gemessen worden war.

In Tabelle 4 sind die Versuche bei 60°C mit einer 0,4 Gew.-%igen Zitronensäurelösung bzw. mit einem Gemisch einer 0,6 Gew.-%igen Zitronensäure, 0,006 Gew.-% Äpfelsäure und 0,06 Gew.-% Milchsäure angegeben.

Beispiel 2

A Testmethode

Die bakteriziden Eigenschaften einer Desinfektionsmittellösung mit einem Wirkstoffgehalt von 0,25, 0,5, 1,0 und 1,5 Gew.-%, wobei 80 Gew.-% des Wirkstoffgehalts Zitronensäure, jeweils 10% des Wirkstoffgehalts Äpfelsäure bzw. Milchsäure sind, wurden im quantitativen Suspensionstest bei 50°C, bei 60°C und 70°C entsprechend den Vorschriften der Deutschen Gesellschaft für Humanmedizin DGHM überprüft, auf die zu Offenbarungszwecken bezug genommen wird.

Die bakteriziden Eigenschaften wurden an *Legionella pneumophila* SG 1 untersucht. Die zur Inaktivierung verwendete Kombination wies 3% Tween 80, 3% Saponin, 0,1% Histidin und 0,1% Cystein auf. Als Kulturnährboden diente BCYE-alpha-Agar. Die Bebrütung fand während 14 Tagen bei 35°C in einer CO₂-Atmosphäre statt.

B Ergebnisse

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Tabelle 5 dargestellt. Man erkennt, daß bei den gewählten Temperaturen von $\geq 50^\circ\text{C}$ und in Abhängigkeit von der gewählten Wirkstoffkonzentration die Desinfektionslösung gegen *Legionella* wirksam ist. Selbst niedrige Wirkstoffkombinationen reichen bei Temperaturen von 70°C aus, um den Anforderungen der Deutschen Gesellschaft für Humanmedizin zu entsprechen.

Beispiel 3

A Testmethode

Entsprechend der Testmethode von Beispiel 2 wurden die sporoziden Eigenschaften einer Infektionsmittellösung mit einem Gehalt an Wirkstoffen von 0,5, 1,0 bzw. 1,5 Gew.-% untersucht, wobei auch hier die Wirkstoffkombination aus 80% Zitronensäure, 10% Äpfelsäure und 10% Milchsäure bestand. Untersucht wurden die sporoziden Eigenschaften bei drei Temperaturen, nämlich 73°C, 83°C und 93°C gegenüber *Bac. subtilis* ATCC 6051 im Wasserbad nach dem quantitativen Suspensionstest der Deutschen Gesellschaft für Humanmedizin. Auf die Richtlinien der DGHM wird hiermit ausdrücklich bezug genommen. Die Sporenzahl der Ausgangssuspension pro ml betrug 9,80 log. Einheiten. Das Inaktivierungsgemisch wies 3% Tween 80, 3% Seponin, 0,1% Histidin und 0,1% Cystein auf.

DE 42 00 066 A1

B Ergebnisse

Die Ergebnisse der Überprüfung der sporoziden Wirksamkeit des Desinfektionsmittels sind in der Tabelle 6 dargestellt. Man kann erkennen, daß das Desinfektionsmittel auch gegen bakterielle Sporen bei 93°C wirksam ist.

Tabelle 1

HBV-inaktivierende Eigenschaften einer 2%igen Zitronensäurelösung bei 75°C. Angegeben sind die Counts pro Minute (cpm)

Einwirkzeit (Minuten)	Dane-Partikel-Kontrollen			Desinfektionsmittel-Kontrollen			Inaktivierungsansatz (2% Zitronensäure)		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
5	4788	4666	4781	n.d.	n.d.	n.d.	11	8	9
15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	12	9	7
30	4818	4517	4619	10	10	12	13	10	10

n.d. = nicht durchgeführt

Tabelle 2

HBV-inaktivierende Eigenschaften der 2%igen Zitronensäurelösung bei 20°C sowie Thermostabilität des HBV bei 75°C

Angegeben sind die Counts pro Minute (cpm)

Einwirkzeit (Minuten)	Zitronensäure (2%)			Tris-Puffer bei 75°C		
	I	II	III	I	II	III
5	14	18	11	135	240	275
15	9	n.d.	n.d.	105	190	220
30	10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. = nicht durchgeführt

Erläuterungen zu den Ansätzen gemäß Tabelle 1 und 2

Dane-Partikel-Kontrollen:

- I. Dane-Partikel + Aqua bidest. + Tris-Puffer
- II. Dane-Partikel + 2% Albumin + Tris-Puffer
- III. Dane-Partikel + FKS + Tris-Puffer

Desinfektionsmittelkontrollen:

- I. Tris-Partikel + Aqua bidest. + Desinfektionsmittel*)
- II. Tris-Partikel + 2% Albumin + Desinfektionsmittel
- III. Tris-Partikel + FKS + Desinfektionsmittel

Inaktivierungsansatz:

- I. Dane-Partikel + Aqua bidest. + Desinfektionsmittel*)
- II. Dane-Partikel + 2% Albumin + Desinfektionsmittel
- III. Dane-Partikel + FKS + Desinfektionsmittel

Volumenverhältnis bei allen Ansätzen I—III:

1 Volumenteil + 1 Volumenteil + 8 Volumenteile

*) 2%ige wäßrige Zitronensäurelösung

DE 42 00 066 A1

Tabelle 3

HBV-inaktivierende Eigenschaften von Formaldehyd (Kontrolle)

Angegeben sind die Counts pro Minute (cpm)

Einwirkzeit (Minuten)	Formaldehyd (1,75%)
1	n.d.
15	485
30	121
60	24

n.d. = nicht durchgeführt

Tabelle 4

HBV-inaktivierende Eigenschaften einer a) 0,4%igen Zitronensäurelösung und b) einer 0,6% Zitronensäure, 0,06% Äpfelsäure und 0,06% Milchsäure enthaltenden Lösung bei 60 Grad Celsius

Einwirkzeit (Min.)	Dane-Partikel-Kontrollen			Inaktivierungsansatz a)			Inaktivierungsansatz b)		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	n.d.	n.d.	n.d.	410	302	358	354	280	421
5	n.d.	n.d.	n.d.	107	99	110	15	19	18
10	4543	4782	4490	12	13	8	10	15	9

Tabelle 5

Ohne Albuminbelastung (I/2.3.1)

Testkeim:

Leg. pneumophila SG 1

KBE der Ausgangssuspension: 11,1 log/ml

Reaktionstemperatur (°C) Konzentration (%)	Reduktionsfaktoren (log.) nach		
	5	10	15
50			
1,5	5,70	6,3	≥ 6,33
1,0	2,57	5,17	6,03
0,5	2,22	3,0	4,95
0,25	1,42	2,05	2,23
Kontrollwert (log.) in WSH (50°C)	7,33	7,20	7,11
Kontrollwert (log.) in WSH (22°C)	7,48	7,43	7,33
60			
1,5	≥ 6,48	≥ 6,43	≥ 6,33
1,0	≥ 6,48	≥ 6,43	≥ 6,33
0,5	≥ 6,48	≥ 6,43	≥ 6,33
0,25	4,94	5,22	6,03
Kontrollwert (log.) in WSH (60°C)	4,47	3,42	2,15
Kontrollwert (log.) in WSH (22°C)	7,48	7,43	7,33
70			
1,5	≥ 6,48	≥ 6,43	≥ 6,33
1,0	≥ 6,48	≥ 6,43	≥ 6,33
0,5	≥ 6,48	≥ 6,43	≥ 6,33
0,25	5,57	5,65	5,73
Kontrollwert (log.) in WSH (70°C)	2,15	1,30	0,0
Kontrollwert (log.) in WSH (22°C)	7,48	7,43	7,33

Tabelle 6

Einwirkungstemperatur (%) Konzentration (%)	Reduktionsfaktoren nach Einwirkungszeit (min)			
	5	10	15	
73				5
1,5	1,50	1,88	1,99	
1,0	0,88	1,85	1,93	
0,5	0,72	0,73	1,16	10
Kontrolle (WSH/73°)	6,69	6,67	6,47	
83				15
1,5	2,39	3,82	3,85	
1,0	2,20	3,34	3,35	
0,5	1,80	2,74	2,86	
Kontrolle (WSH/83°)	6,40	6,40	6,27	
93				20
1,5	3,90	4,20	5,29	
1,0	3,84	3,90	4,33	
0,5	3,36	3,36	4,17	
Kontrolle (WSH/93°C)	6,51	6,11	5,90	
Kontrolle (WSH/Zi-Temp)	6,71	6,62	6,59	25

Patentansprüche

1. Verwendung eines gegebenenfalls in Konzentratform vorliegenden wäßrigen Desinfektionsmittels mit einem Gehalt an Zitronensäure als viruzidem, bakterizidem und sporozidem Wirkstoff zur Inaktivierung von Hepatitis-B-Viren bei der Desinfektion von insbesondere thermolabilen medizinischen Instrumenten und Geräten sowie Teilen derselben, Dialysemaschinen und Flächen. 30
2. Verwendung eines gegebenenfalls in Konzentratform vorliegenden wäßrigen Desinfektionsmittels mit einem Gehalt an Zitronensäure als viruzidem, bakterizidem und sporozidem Wirkstoff zur Inaktivierung von bakteriellen Sporen bei der Desinfektion von insbesondere thermolabilen medizinischen Instrumenten und Geräten sowie Teilen derselben, Dialysemaschinen und Flächen. 35
3. Verwendung eines gegebenenfalls in Konzentratform vorliegenden wäßrigen Desinfektionsmittels mit einem Gehalt an Zitronensäure als viruzidem, bakterizidem und sporozidem Wirkstoff zur Inaktivierung von Legionella pneumophila bei der Desinfektion von insbesondere thermolabilen medizinischen Instrumenten und Geräten sowie Teilen derselben, Dialysemaschinen und Flächen. 40
4. Ausführungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 3, gekennzeichnet durch einen Zusatz von Milchsäure, Äpfelsäure und/oder Weinsäure als zusätzlichen Wirkstoff.
5. Ausführungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff in einer Konzentration von 0,05 – 3 Gew.-%, vorzugsweise 0,2 – 2,5 Gew.-%, insbesondere 0,4 – 0,6 Gew.-%, vorliegt. 45
6. Ausführungsform nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der zusätzliche Wirkstoff jeweils in einer Konzentration von 5 – 20 Gew.-%, vorzugsweise etwa 10 Gew.-%, bezogen auf den Zitronensäuregehalt, vorliegt.
7. Ausführungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Desinfektionsmittel im wesentlichen aus einer 50 Gew.-%igen Zitronensäurelösung bestehend als Konzentrat vorliegt. 50
8. Ausführungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 3, gekennzeichnet durch einen Gehalt an 21 Gew.-% Zitronensäure, 2 Gew.-% Äpfelsäure und 2 Gew.-% Milchsäure. 55

— Leerseite —